

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

AUSLEGESCHRIFT
1 267 873

Deutsche Kl.: 42h-16/41 71

Nummer: 1 267 873
Aktenzeichen: P 12 67 873.8-51
Anmeldetag: 19. Oktober 1966
Auslegungstag: 9. Mai 1968

1

Die Erfindung betrifft als Mikrotome bezeichnete Schneidgeräte, mit denen dünne Schnitte von Proben für optische Mikroskope hergestellt werden. Durch die Erfindung soll ein Mikrotom verfügbar gemacht werden, mit dem biologische und andere Proben geschnitten werden können, ohne daß diese eingefroren oder in Paraffin eingebettet werden müssen, wodurch Verzerrungen und andere nachteilige Effekte durch solche Einbett-Techniken vermieden werden.

Im allgemeinen ist es bisher erforderlich gewesen, die Probe einzufrieren oder in Paraffin od. dgl. einzubetten, wenn dünne Schnitte in der Größenordnung von 5 Mikron hergestellt werden sollen, weil die bisher bekannten Mikrotome im allgemeinen so arbeiten, daß die Schneidkante direkt gegen das zu schneidende Material geführt werden, so daß dieses durch Aufprall geschnitten wird. Wenn das Material nicht eingebettet oder eingefroren ist, kann es dabei zerreißen, zerkratzt oder ungleichförmig geschnitten werden, so daß der Schnitt unbrauchbar wird, wenn er nicht in der angegebenen Art gestützt ist. Beim Einfrieren der Probe oder beim Einbetten in Paraffin od. dgl. wird jedoch häufig die Art der Probe geändert, und es wird dadurch schwierig oder unmöglich, eine gute Analyse zu erzielen.

Der vorliegenden Erfindung liegt deshalb die Aufgabe zugrunde, weiche, frische Gewebe dünn zu schneiden, ohne daß diese fixiert, eingebettet oder eingefroren werden müssen. Dünnschnitte von unbehandelten frischen Geweben sind für die Histologie, Histochemie, Enzymologie, für Fluoreszenztechniken zur Untersuchung von Antikörpern, Einbau von markierten Verbindungen und viele andere interessante Felder von Interesse. Da der Eindringdruck der Schneidkante ein wesentlicher Faktor beim Schnitt von weichen Geweben auf Grund der durch ihn hervorgerufenen elastischen Verformung darstellt, wird erfindungsgemäß die Aufgabe durch Verwendung eines Mikrotoms gelöst, das mit einem Messerblatt arbeitet, welches sich auf einem Teil eines Kreisbogens bewegt, um diesen Druck herabzusetzen und die Eindringkraft des Messers zu erhöhen.

Durch die Erfindung soll also ein Mikrotom oder Schneidgerät verfügbar gemacht werden, bei dem die Schneidkante sich beim Eindringen in die Probe quer zur Eindringrichtung längs eines gebogenen Weges bewegt, so daß der wirksame Facetten- oder Schneidkantenwinkel des Messers merklich herabgesetzt wird, wodurch die Probe mit einem Minimum an unmittelbarem Druck geschnitten wird und Schnitte erzeugt werden, die durch die Messerbewegung nicht zerreißen oder beschädigt sind, so daß die Probe nicht

Mikrotom

Anmelder:
Oxford Laboratories,
San Mateo, Calif. (V. St. A.)Vertreter:
Dr.-Ing. C. Reinländer
und Dipl.-Ing. H. K. Bernhardt, Patentanwälte,
8000 München 23, Mainzer Str. 5Als Erfinder benannt:
Maxim Dimitri Persidsky,
San Francisco, Calif.;
William John Roach,
Hayward, Calif. (V. St. A.)Beanspruchte Priorität:
V. St. v. Amerika vom 21. Februar 1966
(528 943)

2

eingebettet oder eingefroren werden muß, sondern während des Schneidvorganges nur einfach gehalten oder eingekapselt sein muß.

Die wesentlichen Merkmale eines erfindungsgemäßen Mikrotoms sind im Anspruch 1 zusammengestellt; bei einem derartigen Mikrotom bewegt sich die Schneidkante beim Schneidvorgang längs eines gebogenen Weges hin und her, der im wesentlichen tangential zur zu schneidenden Probe liegt, und zwar in der Mitte der Schneidkantenbewegung; denn an diesem Punkt hat die Schneidkante die größte Eindringtiefe und die höchste Bewegungsgeschwindigkeit; die Schneidkante wird dann allmählich von der Probe weggezogen, wenn sie sich den Enden der Hin- und Herbewegung nähert, wo die Messerbewegung langsamer wird und deshalb die Schneidwirkung geringer wird. Auf diese Weise werden einwandfreie Schnitte erzielt.

Weitere Merkmale und Vorteile der Erfindung ergeben sich aus der folgenden Beschreibung in Verbindung mit der Zeichnung; es zeigt

Fig. 1 eine teilweise geschnittene Aufsicht auf ein erfindungsgemäßes Mikrotom,

Fig. 2 einen Schnitt längs der Linie 2-2 in Fig. 1,

Fig. 3 einen Teilschnitt längs der Linie 3-3 in Fig. 1,

Fig. 4 einen Teilschnitt längs der Linie 4-4 in Fig. 1 und

Fig. 5 eine schematische Aufsicht auf den Messerhalter und dessen Tragekonstruktion.

Der in der Zeichnung dargestellte Mikrotom besteht aus einem Gehäuse 1 mit zwei voneinander entfernten senkrechten Ansätzen oder Stützgehäusen 2 und 2', in denen zwei präzise gearbeitete Blattfedern 4 und 4' angeordnet sind, die mit ihren rückwärtigen Enden an den Innenwänden der Gehäuse 2 und 2' befestigt sind, beispielsweise mit Schrauben 5. Die Blattfedern 4 und 4' haben gleiche Abmessungen und körperliche Eigenschaften, und auf den freien Enden sind die beiden Enden eines Stützelementes 3 befestigt, das als rohrförmige Welle dargestellt ist und einen Messerhalter 17 in der Mitte trägt. Die Enden der Welle 3 ragen über die Federn 4 und 4' hervor und greifen in Mikrofonankerstrukturen 6 und 6' ein, die ähnlich wie die Systeme von dynamischen Lautsprechern aufgebaut sind. Das Ende der Welle 3 im Mikrofonanker 6' trägt eine Spule, die mit einem diese umgebenden Permanentmagneten zusammenarbeitet, so daß Spannungen entsprechend den Längsbewegungen der Welle 3 erzeugt werden, so daß der Anker 6' als Abtastgenerator arbeitet. Diese Welle 3, die mit den Federn 4 und 4' gestützt wird, kann längs ihrer Längsachse schwingen, wobei sich die Federn 4 und 4' in Querrichtung verbiegen. Die Ausgangsspannung des Mikrofonankers 6' wird, wie dargestellt, einem Phasenschieber 7, einem Verstärker 8 und einer Verstärkerregelung 9 zugeführt, die mit einem Knopf 15 am Bedienungspult 38 geregelt wird, und fließt von der Verstärkerregelung 9 zur Spule des Mikrofonankers 6, so daß dieser Anker in Verbindung mit dem ihn umgebenden Magneten dazu dient, das, in Fig. 1 gesehen, linke Ende der Welle 3 entsprechend den Eigenbewegungen der Welle anzutreiben, die vom Mikrofonanker 6' festgestellt worden sind.

Der Mikrofonanker 6' arbeitet also als Zeitgeber- oder Abtastgenerator, und der Anker 6 dient als Antrieb für die Welle 3, um die Bewegungsamplitude zu erhöhen. Die Schwingungsfrequenz wird durch die Eigenfrequenz des schwingenden Systems festgelegt, d. h. die Federn 12, 12', die Welle 3 usw. Diese Frequenz liegt beispielsweise in der Größenordnung von 45 bis 137 Hertz und wird nach Wunsch dadurch geregelt, daß die effektive Länge der Federn 4 und 4' beeinflusst wird. Die effektive Länge dieser Federn kann mit einstellbaren Klemmen 10 und 10' eingestellt werden, durch die Schrauben 11 und 11' hindurchtreten. Diese Schrauben greifen auch durch Längsschlitze 12 und 12' in den Federn 4 und 4' und durch ähnliche Schlitze 13 und 13' in den Wänden der Stützen 2 und 2', und auf die freien Enden der Schrauben sind Rändelmutter 14 und 14' aufgeschraubt, mit denen die Federn 4 und 4' an bestimmten Punkten ihrer Länge auf die Schlitze 12 und 12' gepreßt werden, wobei die Punkte durch Skalen 28 (Fig. 4) angegeben sind, so daß je nach Einstellung der Schrauben die wirksame Länge der Federn geändert wird und damit die Schwingungsfrequenz der Welle 3. Je kürzer die wirksame Länge der Federn gewählt ist, um so höher liegt die Schwingungsfrequenz der Welle 3.

Fig. 5 dargestellt ist. Der Messerhalter 17 führt also eine zusammengesetzte Bewegung aus, die eine Besonderheit des erfindungsgemäßen Mikrotoms ist und zur Herstellung sauberer Schnitte besonders gut geeignet ist. Der Ruhezustand des schwingenden Systems ist in der Lage A dargestellt. Ersichtlich verbindet die Welle 3 die linken und rechten Blattfedern 4 und 4' so, daß die Bewegung einer Feder genau die gleiche Bewegung der anderen Feder hervorruft. Wenn der Antrieb 6 die Welle 3 aus der Mittellage A nach rechts in Lage B bewegt, gesehen in Fig. 5, wandert die Welle auch um eine Strecke X nach hinten, und ebenso, wenn die Welle 3 aus ihrer Mittellage A nach links in die Lage C wandert. Auf Grund dieser beiden Bewegungen der Welle beschreibt der Messerhalter 17 einen kleinen Bogen. Wenn die Federn 4 und 4' die gleiche wirksame Länge haben, bleibt der Winkel θ zwischen der Vorderebene des Messerhalters 17 und der dargestellten Mittellinie konstant 90° , unabhängig von der Lage des Messerhalters.

Während eines Schwingungszyklus ist die Geschwindigkeit der Klinge 18, die vom Messerhalter 17 getragen wird, in den Lagen B und C Null und wird von diesen Stellungen aus zur Maximalgeschwindigkeit in Lage A beschleunigt. Eine Vergrößerung der Amplitude vergrößert selbstverständlich die Auslenkung YY, die Auswanderung X und die maximale Klingengeschwindigkeit. Wenn durch Verkürzung der effektiven Federnlänge die Frequenz erhöht wird und die Auslenkung YY konstant gehalten wird, werden die maximale Klingengeschwindigkeit und die Auslenkung X vergrößert. Es ist also eine unendliche Anzahl von Klingenbewegungen dadurch möglich, daß die Amplitude und Frequenz geändert wird, und für jedes Gewebe kann eine geeignete Kombination von Variablen experimentell festgelegt werden. In der Praxis ist es gewöhnlich möglich, befriedigende Schnitte auch bei Frequenzen und Amplituden zu erhalten, die um eine oder zwei Skalenteilen vom Optimum auf der Skala 28 abweichen.

Der Messeramplitudenkopf 15 am Bedienungspult 38 ist, wie schematisch dargestellt, so aufgebaut, daß er die Verstärkerregelung 9 betätigt, so daß die Bewegungsamplitude der Welle 3 beeinflusst wird; diese Einstellung beeinflusst die Schwingungsfrequenz der Welle nicht. Der Messerhalter 17 ist einstellbar auf der Welle 3 montiert und kann winkelmäßig um dessen Längsachse verdreht werden, so daß der Schnittwinkel der Schneidkante oder Klinge 18 je nach Wunsch verändert wird; diese Schneidkante ist vorzugsweise ein geeignetes Rasiermesser, wenn auch andere Schneidkanten verwendet werden können. Die Klinge 18 ist so ausgebildet, daß sie sich an eine nicht dargestellte Probe anlegen kann, die auf einen geeigneten Halter, wie 20, gestützt ist, der von einem Probenträger 19 in einem Bad 29 gehalten wird, das auf der Oberseite 30 eines beweglichen Schlittens angeordnet ist, der auf der Unterseite Führungsschienen 32 aufweist, die in Führungen 33 auf der Unterseite des Mikrotoms 1 verschiebbar sind; die Führungen 33 ermöglichen es, dem Schlitten 31, den Probhalter und die darauf sitzende Probe auf die Klinge 18 zu und von dieser hinweg zu bewegen.

Der Schlitten 31 kann mittels eines umkehrbaren Motors 34 hin- und herbewegt werden, der über ein

damit die der Probe wird durch einen Knopf 37 am Bedienungspult 38 eingestellt. Die Geschwindigkeit kann bequem von einigen Zentimetern pro Minute bis zu mehreren tausend Zentimetern pro Minute eingestellt werden. Druckknopfschalter 39 und 40 am Pult 38 kontrollieren die Hin- und Rückbewegungen des Schlittens 31. Nach dem Betätigen des Druckknopfes 39 läuft der Schlitten 31 mit der Probe im Bad 29 auf die schwingende Klinge 18 zu, so daß die Probe dort geschnitten wird; nach Betätigen des Druckknopfes 40 kehrt der Schlitten mit höherer Geschwindigkeit zur Vorderseite des Mikrotoms zurück, d. h. in Fig. 1 gesehen nach unten. Während der Rückbewegung des Schlittens wird die Probe von der Klinge weggeführt, die während dieser Rückbewegung nicht mehr schwingt, was durch eine nicht näher dargestellte Relaischaltung im Gehäuse 1 bewirkt wird. Der Druckknopf 41 am Bedienungspult 38 ist der Netzschalter des ganzen Gerätes.

Wie in der Zeichnung dargestellt, trägt die Probenstütze 19 einen Vakuumhalter 20 mit einer perforierten Scheibe 21 auf der Oberseite. Wenn der Vakuumhalter 20 verwendet wird, wird von innen von einer Vakuumquelle oder Pumpe (nicht dargestellt) Unterdruck angelegt, so daß eine auf die perforierte Oberseite 21 gelegte Probe vom Unterdruck im Halter 20 festgehalten wird. Die Probe braucht gewöhnlich nicht eingefroren oder in Versteifungswerkstoffe wie Paraffin eingebettet zu werden, um diesen Zweck zu erreichen.

Die Stütze 19 reicht durch das Bad 29 nach unten und kann mittels eines Motors 22 auf dem Schlitten 31 angehoben und abgesenkt werden. Der Motor 22 dreht über ein Vorgelege 23 eine Mutter 24 in einem rohrförmigen Gehäuse 25; die Mutter 24 dient dazu, einen Gewindeansatz 26 am unteren Ende der nicht verdrehbaren Stütze 19 innerhalb des Gehäuses 25 vertikal zu bewegen, so daß die Stütze je nach der Drehrichtung des Motors 22 angehoben oder abgesenkt werden kann. Der Motor wird von einem Schnappschalter 42 auf der Schlittenoberseite 30 geschaltet; die Bewegungsrichtung dieses Schalters bestimmt dabei die Bewegungsrichtung der Stütze und damit der Probe nach oben oder unten. Der Motor 22 sorgt für eine relativ schnelle Vertikalbewegung der Probe, wenn z. B. dicke Schnitte von 100 Mikron oder mehr hergestellt werden sollen. Die Stütze 19 weist einen Auslösearm 27 auf, mit dem Endschalter 48 betätigt werden, die dazu dienen, die Vertikalbewegung der Stütze 19 im Gebrauch zu begrenzen; die Lampen 46 und 47 auf der Oberseite des Schlittens 30 zeigen an, wenn die Stütze 19 am oberen bzw. unteren Ende des Hubes angekommen ist.

Gewöhnlich wird ein von Hand betätigter Dickenkontrollknopf 43 dazu verwendet, Schnitte von weniger als 100 Mikron Dicke herzustellen. Dieser Knopf 43 dreht eine Welle 44, die über ein Vorgelege 45 dazu dient, die Mutter 24 zu verdrehen, um die Probensäule 19 und damit die Probe anzuheben oder abzusinken. Die Dicke eines Schnittes kann unmittelbar von einem Mikrometer auf der Oberseite des Knopfes 43 abgelesen werden.

Im Betrieb wird die Probe auf den Halter 20 oder einen anderen Halter auf der Stütze 19 gelegt, und eine Flüssigkeit, beispielsweise Wasser, wird in das Bad 29 gebracht, so daß die Klinge unter dem Flüss-

längs der Skalen 28, der Messeramplitude mit Knopf 15, der Probengeschwindigkeit mit Knopf 37 und richtiger Einstellung des Schnittwinkels durch Verdrehen des Halters 17 auf der Welle 3 wird der Startknopf 39 gedrückt, und daraufhin wandert die Probe auf das schwingende Messer 18 zu. Wenn das Messer durch die Probe hindurchgewandert ist, wird der Rückkehrknopf 40 gedrückt, so daß der Probenschlitten 31 zurückgeführt wird und die Vibration des Messers 18 aufhört. Der Schnitt schwimmt klar von der Probe auf der Flüssigkeit. Besonders weiche Proben müssen eventuell in einem Trägermedium wie Agar-Agar, Gelatine oder Alginat gekapselt werden, ehe sie geschnitten werden. Die Flüssigkeit im Bad 29 verhindert eine Aufheizung oder ein Austrocknen der Proben.

Die Bewegung des Messers 18 längs eines gekrümmten Weges quer zur Probe setzt nicht nur den Eindringdruck desselben wesentlich herab, weil der effektive Facetten- oder Schneidwinkel herabgesetzt wird und die Klinge mit kleinerer als der Spitzengeschwindigkeit in die Probe eintritt und größere Laufgeschwindigkeit erst erreicht, wenn sie sich dem Schwingungsmittelpunkt nähert, wodurch eine geringe Gleitreibung im Bereich der stärksten Schnitte erreicht wird, und dann die Klinge von der Probe zurückgezogen wird. Wenn sie sich dem Endpunkt ihrer Bahn in einer der beiden Querrichtungen nähert, wird ein scharfer, regelmäßiger und gleichförmiger Schnitt mit minimaler Beeinflussung der verwendeten Probe erreicht, und die meisten Proben können geschnitten werden, ohne eingebettet, fixiert oder eingefroren zu werden.

Patentansprüche:

1. Mikrotom, dadurch gekennzeichnet, daß zwei voneinander entfernt angeordnete gleichartige Blattfedern jeweils mit einem Ende in einem Gehäuse gelagert sind, an den freien Enden der beiden Federn ein gemeinsamer Messerträger befestigt ist, ein Probenhalter auf einem Schlitten befestigt ist, mit dem der Probenhalter und die gegebenenfalls darauf befestigte Probe auf den mit einem Messer ausgestatteten Messerhalter zu bewegbar ist, und eine Antriebseinrichtung zum Antrieb des Messerträgers zu einer Hin- und Herbewegung auf einem gebogenen Weg vorgesehen ist.

2. Mikrotom nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zur Beeinflussung der Schwingungsfrequenz des Messerträgers die wirksame Länge der Blattfedern veränderbar ist.

3. Mikrotom nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Antrieb aus einem Mikrofonanker besteht, der am Messerträger befestigt ist, und ein Abtastmikrofonanker vorgesehen ist, der vom Messerträger angetrieben wird und ein der Schwingungsfrequenz der schwingenden Einheit aus Federn und Messerträger entsprechendes Signal liefert, welches den Antrieb des Antriebsmikrofonankers steuert.

4. Mikrotom nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß ein Verstärker vorgesehen ist, dem das Abtastsignal zugeführt wird und der dieses nach Verstärkung dem Antriebsmikrofon-

wegungsamplitude des Messerträgers und damit die Breite des Messerschnittes einstellbar ist.

5. Mikrotom nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Probenhalter in einem auf dem Probenschlitten angeordneten und mit diesem beweglichen Bad angeordnet ist, daß der Schlitten mit kontrollierter Geschwindigkeit vor und zurück bewegt werden kann und daß der Probenhalter mit veränderlichen Geschwindig-

keiten automatisch oder unter manueller Kontrolle angehoben und abgesenkt werden kann.

6. Mikrotom nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Probenhalter ein Vakuumhalter mit einer perforierten Oberseite ist, auf dem eine Probe festliegt, ohne daß sie in steifen Werkstoffen eingeschlossen werden muß, so daß Beschädigungen oder Zerrungen der Probe vermieden werden.

Hierzu 1 Blatt Zeichnungen

FIG. 1

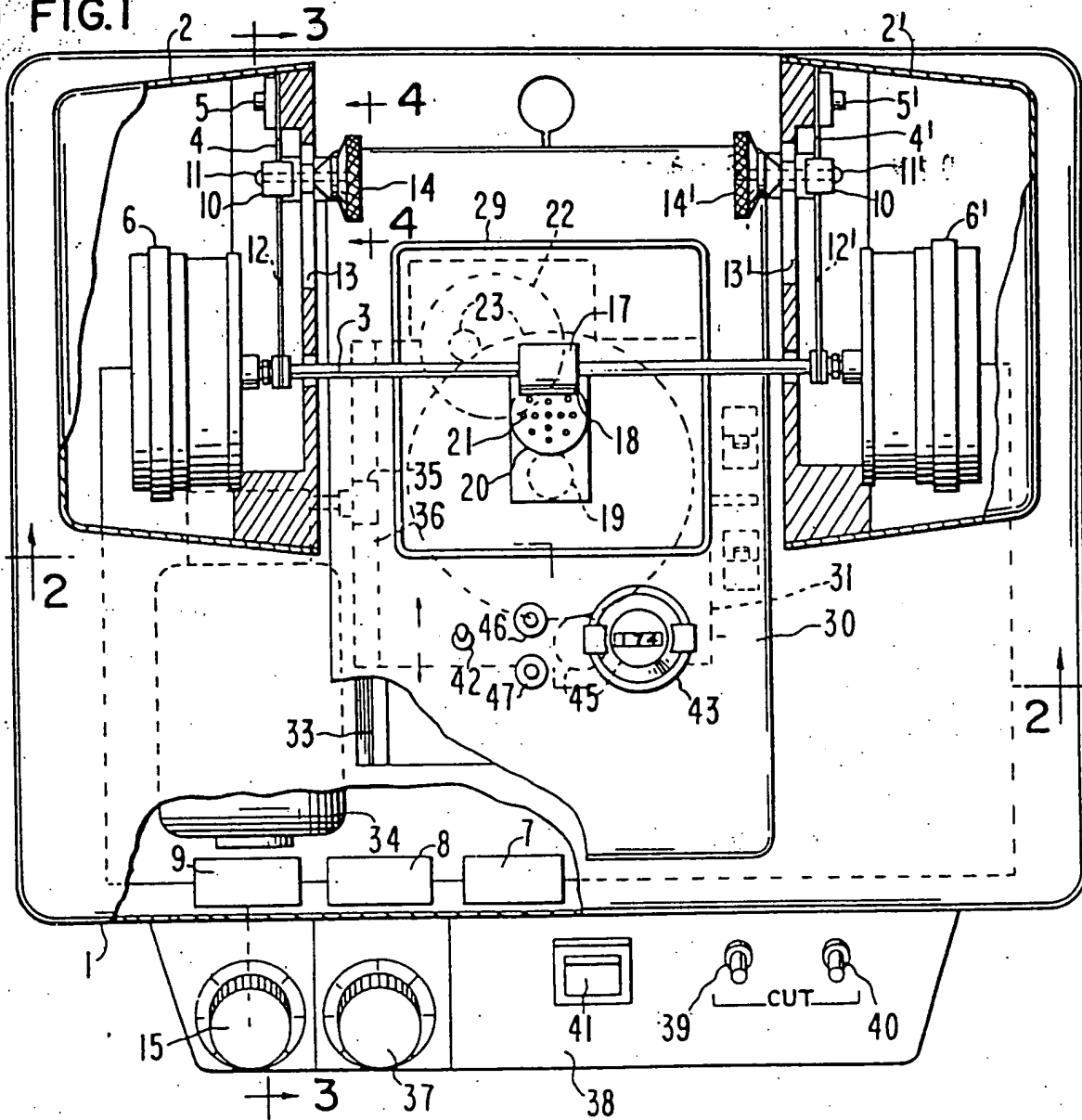


FIG. 5

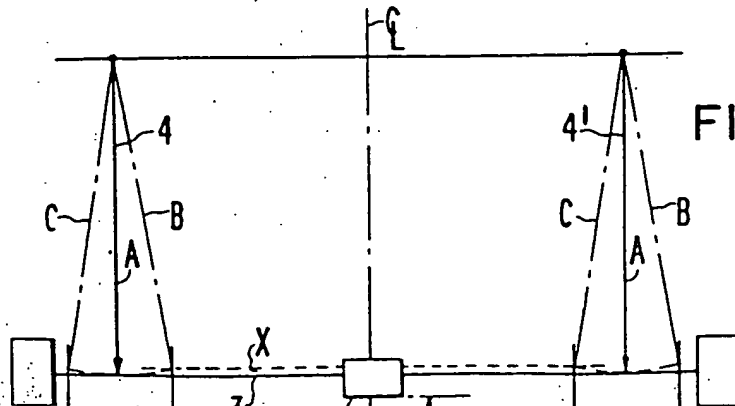


FIG. 2

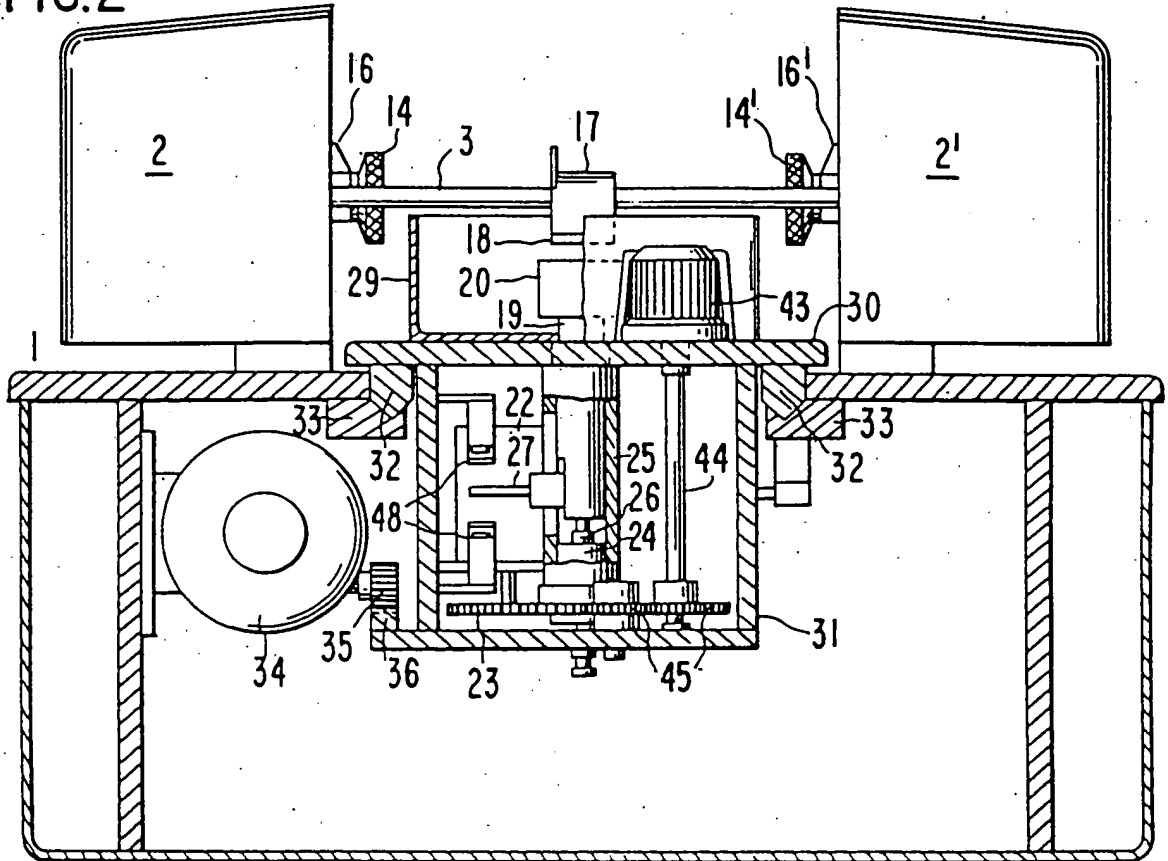


FIG. 3

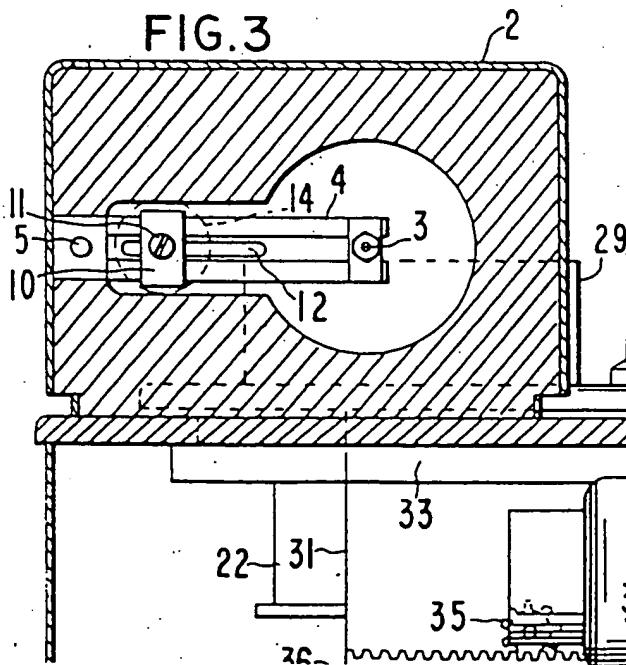


FIG. 4

